Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie in Straßburg
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth)

Ueber
neuere Diphtherie-Nährböden

Inaugural-Dissertation

der medizinischen Fakultät

der

Kaiser Wilhelms-Universität Straßburg

zur Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Alfred Hanau

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

Jena
Gustav Fischer
1913

Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie in Straßburg
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth)

Ueber
neuere Diphtherie-Nährböden

Inaugural-Dissertation

der medizinischen Fakultät

der

Kaiser Wilhelms-Universität Straßburg

zur Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Alfred Hanau

ACAD.
UGD.BAT.
BIBL.

Jena
Gustav Fischer
1913

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Straßburg.

Referent: Prof. Dr. Uhlenhuth.

Sonderabdruck aus dem
Centralblatt f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 72. Heft 3.

Nach der Entdeckung des Diphtheriebacillus war die Einführung des Loefflerschen Serums ein großer Fortschritt für die praktische Verwertung dieser Entdeckung. Das Loeffler-Serum kann als ein Spezialnährboden für die Diphtheriebacillen bezeichnet werden, da er ihr Wachstum gegenüber dem der Begleitbakterien fördert. Jahrzehntelang hat er im Dienste der Bekämpfung der Diphtherie gute Dienste geleistet. Immerhin weist er noch gewisse Mängel auf. Obwohl er einen Elektivnährboden für die Diphtheriebacillen darstellt, besteht die Möglichkeit, daß spärlich vorhandene Diphtheriebacillen durch andere Bakterien so überwuchert werden, daß ihr Auffinden erschwert oder unmöglich wird. Außerdem ist die Unterscheidung zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen nicht immer möglich. Deshalb wurden in letzter Zeit mehrfach Versuche gemacht, diese Fehler möglichst zu beseitigen.

Rankin[1]) suchte 1911 die Diphtheriediagnose durch Benutzung eines „Potassium-sulphocyanide Neutral red Glucose Serum" zu erleichtern. Dieser neue Nährboden wird hergestellt, indem man zu einer Mischung von 3 Teilen frischen Hammelblutserums und einem Teil Bouillon oder Wasser 1 Proz. Traubenzucker, 1 Proz. Kaliumsulfocyanid und 1 Proz. einer 1-proz. wässerigen Neutralrotlösung zusetzt, welches Gemisch dann in üblicher Weise fraktioniert, sterilisiert und zum Erstarren gebracht wird.

Der spezielle Zweck dieses Nährbodens besteht darin, daß durch den Gehalt an Kaliumsulfocyanid die Begleitbakterien in ihrer Entwickelung gehemmt werden sollen. Das Neutralrot hat die Aufgabe, durch Farbumschlag infolge Säurebildung die Anwesenheit von Diphtheriebacillen anzuzeigen. Der fertige Nährboden ist orangefarben und wird bei Anwesenheit von säurebildenden Mikroorganismen rosa bis rot. Als solche kommen nach Rankins Angaben in erster Linie Diphtheriebacillen in Betracht; einige wenige ebenfalls säureproduzierende Bakterien könne man durch die Art des Rot unterscheiden, so daß eine mikroskopische Untersuchung entbehrt werden könne; besonders aber spräche Ausbleiben der Rötung unbedingt für das Fehlen von Diphtheriebacillen.

---

1) Rankin, A Medium for Bacillus diphtheriae. (Journ. of Hyg. 1911. No. 2.)

Eigene Untersuchungen [1]).

Ich habe diesen Nährboden in 67 Fällen geprüft. Als Material dienten mir Rachen- und Nasenabstriche von Diphtherieverdächtigen. Es wurde in sämtlichen Fällen zur Kontrolle auch Loeffler-Serum beimpft.

Das Resultat war in 65 Fällen auf beiden Nährböden dasselbe, und zwar 16mal positiv; in je einem Falle wuchsen Diphtheriebacillen nur auf Loeffler- bzw. Rankin-Serum. Das Bakterienwachstum auf Rankin-Serum war im allgemeinen geringer als auf Loeffler-Serum, gelegentlich auch das der Diphtheriebacillen. Jedoch war ein besseres Gedeihen der Diphtheriebacillen auf Rankin-Serum gegenüber dem auf Loeffler-Serum häufiger zu konstatieren als das umgekehrte Verhalten. Bezüglich der Färbung des Nährbodens konnte folgendes festgestellt werden: Bei Anwesenheit von Diphtheriebacillen war der Nährboden 10mal deutlich, 2mal nur an einzelnen Stellen, 5mal nicht gerötet; bei Abwesenheit von Diphtheriebacillen fand sich deutliche Rötung 14mal, partielle 11mal und gar keine Rötung 25mal. Außer Diphtheriebacillen verursachten manche Kokkenarten, besonders Staphylokokken, häufig Rötung; doch sahen dann die Kolonieen meist auch auf Rankin-Serum saftiger aus, das Rot war glänzender, während das Rot der Diphtheriebacillen meist matter war. Die Unterschiede sind jedoch nicht so groß und nicht so konstant, daß sich eine mikroskopische Untersuchung erübrigte. Bei Anwesenheit von Pseudodiphtheriebacillen war das Serum nicht oder nur schwach gerötet, so daß hierin ein Moment erblickt werden kann, das differentialdiagnostisch zur Unterstützung herangezogen werden könnte. Zu der Färbung ist noch zu bemerken, daß durch das Diffundieren der Säure der Nährboden oft auch an Stellen gerötet erscheint, wo sich nur nicht säurenbildende Bakterien befinden, so daß das Auffinden der Diphtheriebacillen in vielen Fällen direkt erschwert wird.

Es geht also aus meinen Versuchen hervor, daß die Diphtheriebacillen häufiger Rötung als andere Bakterien erzeugen; die Unterschiede sind aber zu gering und zu wenig konstant, als daß auf das Mikroskop verzichtet werden könnte. Da auch die Begleitbakterien meist nicht wesentlich in ihrer Entwickelung gehemmt werden und durch die Einführung des Neutralrotes die charakteristischen Merkmale der einzelnen Kolonieen verwischt werden, mitunter das Auffinden der Diphtheriebacillen sogar erschwert ist, so bedeutet der Rankinsche Nährboden meines Erachtens keinen Fortschritt gegenüber dem Loeffler-Serum.

Conradi und Troch [2]) suchen die Beseitigung der Mängel des Loeffler-Serums dadurch zu erreichen, daß sie neben einer Loeffler-Platte noch eine Tellurplatte verwenden. Diese Tellurplatte, die ebenfalls einen festen Nährboden darstellt, wird aus Rinderserum und künstlicher Bouillon hergestellt, die außer Fleischextrakt, Kochsalz und Pepton noch 0,6 Proz. Calcium bimalicum und 1 Proz. Traubenzucker enthält. Zu je 100 ccm eines aus 3 Teilen Rinderserums und 1 Teil dieser Bouillon

1) Das Ergebnis wurde bereits auf dem Mikrobiologentag in Berlin (1913, 31. März bis 2. April) von Dold mitgeteilt.

2) Conradi u. Troch, Ein Verfahren zum Nachweis der Diphtheriebacillen. (München. med. Wochenschr. 1912. No. 30.)

zusammengesetzten Gemisches werden dann noch 2 ccm einer 1-proz. Lösung von Kalium tellurosum hinzugesetzt.

Conradi und Troch verfahren nun in der Weise, daß sie mit dem zu untersuchenden Material zuerst eine Loeffler-Platte beimpfen, auf der die Diphtheriebacillen sich anreichern sollen. Nach 3-stündigem Bebrüten bei 35° C wird ein Teil des auf der Loeffler-Platte gewachsenen Materials auf 1 oder 2 Tellurplatten überimpft, und diese werden nach weiteren 20 Stunden auf Diphtheriebacillen untersucht, falls auf der Loeffler-Platte nach im ganzen 11-stündigem Wachstum keine Diphtheriebacillen gefunden worden sind. Zweck der Tellurplatte ist es, vermöge ihres Gehaltes an Kalium tellurosum und Calcium bimalicum die störenden Begleitbakterien in ihrem Wachstum zu hemmen. Ferner erscheinen die Diphtheriekolonieen durch reduziertes Tellur tiefschwarz, während die anderen Mikroorganismen, da sie schwächer reduzierend wirken, ein graues bis grauschwarzes Aussehen haben.

Conradi und Troch haben in 200 diphtherieverdächtigen Proben von Rachen- und Nasenabstrichen 121mal Diphtheriebacillen gefunden, davon 114mal auf Tellur-, 59mal auf Loeffler-Platten. Sie fanden also in 7 Fällen Diphtheriebacillen nur auf Loeffler-, in 52 Fällen sowohl auf Loeffler- als Tellurplatten; in 62 Fällen fanden sich Diphtheriebacillen nur auf Tellurplatten.

Wagner[1]) berichtet über 114 Fälle, die er in der angegebenen Weise untersucht hat. Davon gaben 108mal Loeffler- und Tellurplatte übereinstimmende Resultate, darunter 39 positive; von den übrigen 6 Fällen waren 4 nur auf Loeffler-Serum, 2 nur auf Tellurplatten positiv. In 72 weiteren Fällen bestrich Wagner mit demselben Tupfer eine Loeffler- sowie eine Tellurplatte. Von diesen hatten gleiche Ergebnisse 61 Fälle, darunter 27 positive. In den übrigen wurden 3mal nur auf Loeffler-, 6mal nur auf Tellurserum Diphtheriebacillen gefunden.

Nach Wagner ermöglicht die Conradi-Trochsche Tellurplatte leichtere Auffindbarkeit der Diphtheriekolonieen, ohne dem geübten Untersucher wesentlich mehr positive Befunde zu liefern. Im übrigen hält er die Anreicherungsmethode für umständlich, zeitraubend und kostspielig, und empfiehlt die ausschließliche Verwendung der Tellurplatte.

Neisser[2]) hält die Schwarzfärbung der Diphtheriekolonieen für ein durchaus konstantes Merkmal gegenüber sehr vielen anderen Bakterien und auch gegenüber vielen Diphtheroiden, von welchen aber auch manche eine gewisse Schwarzfärbung hervorriefen.

Schürmann und Hajos[2]) prüften das Conradi-Trochsche Anreicherungsverfahren in 108 Fällen nach und hatten negative Resultate auf Loeffler- und Tellurplatten in 72 Fällen, positive Resultate auf beiden Platten in 28 und positive Resultate nur auf Tellurplatte in 8 Fällen. Außerdem beimpften sie in 133 Fällen Loeffler- und Tellurplatten gleichzeitig und fanden dabei 33mal auf Loeffler- und Tellurplatte, 15mal nur auf Tellurplatte, 85mal überhaupt keine Diphtheriebacillen.

Sie kommen auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Resultat, daß der Zusatz von Tellur die Diphtheriediagnose erleichtert, und daß bei Verwendung von Tellurplatten häufiger Diphtheriebacillen gefunden werden

---

1) Wagner, Erfahrungen mit der Conradi-Trochschen Tellurplatte zum Diphtherienachweis. (München. med. Wochenschr. 1913. No. 9.)

2) 7. Tagung der freien Vereinig. f. Mikrobiol. in Berlin, 31. März bis 2. April 1913

als auf Loeffler-Serum. Sie empfehlen direkte Aussaat auf die Tellurplatte, die bessere Resultate gebe, als die Anreicherung auf der Loeffler-Platte, kombiniert mit dem Tellurplattenverfahren. Ferner stellten sie fest, daß auch in flüssigen Tellurnährböden sich eine stärkere Anreicherung der Diphtheriebacillen erzielen ließe als in gewöhnlicher Bouillon. Jedoch enthalten sie sich eines definitiven Urteils.

Trautmann und Gaehtgens[1]) sehen die Vorzüge der Tellurplatte im Farbenunterschied, im Knoblauchgeruch, der nur bei Reinkulturen von Wert sei. Als Mängel führen sie unter anderem an: die Umständlichkeit des Herstellungsverfahrens, die verschiedenen Farbenabstufungen auch virulenter Diphtheriekulturen (grau bis schwarz), ferner das Wachsen anderer Bakterien (Staphylokokken, Sarcine, Luftkeime) in schwarzen Kolonieen, ferner das teilweise Atypischwerden der Formen. Sie halten die Tellurplatte bis zu einem gewissen Grade für wertvoll für bestimmte Sonderuntersuchungen, namentlich für solche mit Reinkulturen, möchten aber von ihrer Verwendung für die tägliche Diphtherieuntersuchung absehen.

Baerthlein[1]) konstatiert, daß gewisse Formen der Diphtheriebacillen in zarten hellbraunen Kolonieen wachsen, wodurch er den Wert der Tellurplatte nicht für wesentlich verringert erachtet, da dessen Hauptvorzug in seiner hohen Elektivität zu suchen sei.

Heimann[1]) änderte bei einem Teil seiner Untersuchungen die Anordnung in der Art, daß er von der primären Loeffler-Platte sowohl auf Tellur- als auf Loeffler-Serum überimpfte. Danach kommt er zu dem Resultat, die Tellurplatte für entbehrlich halten zu können.

Klunker[2]) hatte in 140 nach der Conradi-Trochschen Methode untersuchten Fällen 133mal auf Loeffler- und Tellurplatte das gleiche Resultat, darunter 32mal ein positives. 2mal wuchsen nur auf Loeffler-, 5mal nur auf dem Tellur-Serum Diphtheriebacillen. Klunker kommt zu dem Schluß, daß das neue Verfahren nicht hinter der Loeffler-Methode zurücksteht, aber auch keine Verbesserung bedeutet; der Wert des Tellurserums liege weniger in seiner praktischen Verwendbarkeit für den Diphtherienachweis als vielmehr darin, daß er möglicherweise über manche biochemische Eigenschaften auch anderer Bakterien Aufschluß gäbe.

Eigene Untersuchungen[3]).

Ich habe das Tellurserum in 94 Fällen zur Untersuchung von diphtherieverdächtigen Rachen- und Nasenabstrichen benutzt. 52mal wurde das von Conradi und Troch angegebene Verfahren befolgt, 42mal wurden Tellurplatten ebenso wie die Loeffler-Platten sofort mit dem zu untersuchenden Material beimpft (ohne Anreicherungsverfahren). Die mikroskopischen Untersuchungen fanden 20—24 Stunden nach dem ersten Ausstreichen statt, bei den Loeffler- und Tellurplatten gleichzeitig. Es wurden dadurch für Loeffler- und Tellurserum gleiche Verhältnisse geschaffen.

Von den ersteren 52 Fällen ergaben Loeffler- und Tellurplatten 48mal dasselbe Resultat, davon 9mal ein positives. Von den übrigen

---

1) 7. Tagung der freien Vereinig. f. Mikrobiol. in Berlin, 31. März bis 2. April 1913.

2) Klunker, Ueber die Verwendbarkeit der Conradi-Trochschen Tellurplatte zum Diphtherienachweis. (München. med. Wochenschr. 1913. No. 19.)

3) Das Ergebnis wurde bereits auf dem Mikrobiologentag in Berlin (1913, 31. März bis 2. April) von Dold mitgeteilt.

4 Fällen fielen einer nur auf Tellurserum, 3 nur auf Loeffler-Serum positiv aus. In diesen 4 Fällen fanden sich die Diphtheriebacillen nur in sehr geringer Anzahl. Von den 42 direkt beimpften Tellurplatten ergaben 39 dasselbe Resultat wie die Kontroll-Loeffler-Platten; 9mal fand ich auf beiden Diphtheriebacillen. In 3 Fällen wurden nur auf Loeffler-Platten Diphtheriebacillen gefunden.

Die Diphtheriebacillen wuchsen meist in schwarzen bis grauschwarzen Kolonieen; doch kamen auch vereinzelt positive Fälle vor, bei denen trotz zahlreich vorhandener Diphtheriebacillen die Kolonieen nur dunkelgrau oder braun waren. Andererseits wuchsen auch andere Bakterien häufig in schwarzgrauen Kolonieen, besonders war dies beim Staphylococus pyogenes aureus der Fall; dessen Kolonieen waren oft viel üppiger als die der Diphtheriebacillen, und man konnte daraus schon mitunter die Diagnose makroskopisch stellen. Dagegen fand ich nie Pseudodiphtheriebacillen, die in schwarzen oder sehr dunkelgrauen Kolonieen gewachsen waren, falls nicht etwa Mischkolonieen vorlagen.

Auf den primär beimpften Tellurplatten fanden sich im allgemeinen viel mehr reine Kolonieen vor, als auf den sekundär beimpften; dies gilt nicht nur für die Diphtheriebacillen, sondern auch für andere Bakterien. Auf den sekundär beimpften waren einzelne isolierte Kolonieen viel seltener zu finden. Dies findet seine Erklärung wohl darin, daß an den Tupfern, die mit dem Sekret des Kranken infiziert sind, die lebensfähigen Bakterien in geringerer Anzahl haften als an den Tupfern, mit denen man von Loeffler-Serum auf Tellurserum überimpft, so daß in dem einen Falle die einzelnen Bakterien schwerer isoliert wachsen können, als in dem anderen.

Diese Resultate sprechen also, zahlenmäßig betrachtet, weder für eine Ueberlegenheit der Tellurplatte, noch für eine solche des Conradi-Trochschen Verfahrens über die alte Methode; die kleine Differenz zuungunsten der Tellurplatte mag auf Zufälligkeiten beruhen. Meine Erfahrungen zeigten allerdings, daß die Tellurplatte, direkt beimpft, einen Vorzug hat, nämlich den, daß die Diphtheriebacillen in manchen Fällen leichter zu finden sind. Ferner spricht dann, wenn die mikroskopische Untersuchung nicht klar ergibt, ob Diphtherie- oder Pseudodiphtheriebacillen vorliegen, schwarzes Wachstum gegen die Diagnose Pseudodiphtherie.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Lebenslauf.

Verfasser der Arbeit „Ueber neuere Diphtherienährböden, Alfred Hanau, wurde in Saarlouis am 22. März 1886 als Sohn des Kaufmannes Lion Hanau geboren.

Seine Schulbildung erhielt er am Gymnasium in Saarlouis und bestand ebenda im Frühjahr 1905 die Reifeprüfung. Er besuchte dann die Universität zu Straßburg, wo er die Vorlesungen der Herren Professoren Schwalbe, Weidenreich, Braun, Goette hörte. Im Herbst 1905 ging er nach Heidelberg und hörte hier unter anderem die Vorlesungen des Herrn Professors Fürbringer. Im Frühjahr 1906 bezog er die Universität München; seine dortigen Lehrer waren die Professoren von Bayer, Röntgen, Rückert, Göbel, Mollier, von Voit, Bollinger, Müller, von Angera, Kraeplin, Pfaundler, Döderlein, und von Tappeiner. Daselbst bestand er im Herbst 1907 die ärztliche Vorprüfung. In Straßburg, wo er vom Herbst 1908 ab immatrikuliert war, hörte er die Vorlesung der Herren Professoren Moritz, Madelung, Fehling, Hertel, Wollenberg, Chiari, Forster, Schmiedeberg, Wolf, Schirmer, Stargart, Weidenreich. Die ärztliche Prüfung bestand er im Dezember 1910. Er war dann 5 Monate im Bürgerspital zu Straßburg, dann 4 Monate im Krankenhaus St. Georg zu Hamburg und später 3 Monate an der medizinischen Klinik zu Straßburg als Praktikant tätig. Von Sommer 1912 bis Frühjahr 1913 arbeitete er am Institut für Hygiene und Bakteriologie zu Straßburg und ist seit Frühjahr 1913 an der Universitäts-Augenklinik daselbst tätig.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.